

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE D'ANGERS

ANNEE 1972

N° 148

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

Diplôme d'État

par

Madame HOREAU
née COUFFON Nicole

le 12 Novembre 1941 à CHATEAU-GONTIER (Mayenne)

Présentée et soutenue publiquement le

**Leucose à plasmocytes avec double pic sérique
d'immunoglobulines pathologiques**

Président : Monsieur le Professeur FRESSINAUD

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE D'ANGERS

ANNÉE 1972

N°

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

Diplôme d'État

par

Madame HOREAU
née COUFFON Nicole

le 12 Novembre 1941 à CHATEAU-GONTIER (Mayenne)

Présentée et soutenue publiquement le

**Leucose à plasmocytes avec double pic sérique
d'immunoglobulines pathologiques**

Président : Monsieur le Professeur FRESSINAUD



FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE D'ANGERS

Section Médecine : rue Haute de Reculée

Section Pharmacie : 16, Bd Daviers

DOYEN	M. RENIER
ASSESSEURS	{ (Pharmacie) M. GERMAIN
	{ (Médecine) M. DESNOS
	{ (Médecine) M. PILLET
	{ (Pharmacie) Melle QUERO
DOYEN HONORAIRE	M. ROUCHY
PROFESSEURS HONORAIRES	{ M. AMSLER
	{ M. DAVID
	{ M. HY
	{ M. ROUSSEAU
	{ M. MARTIN

--oOo--

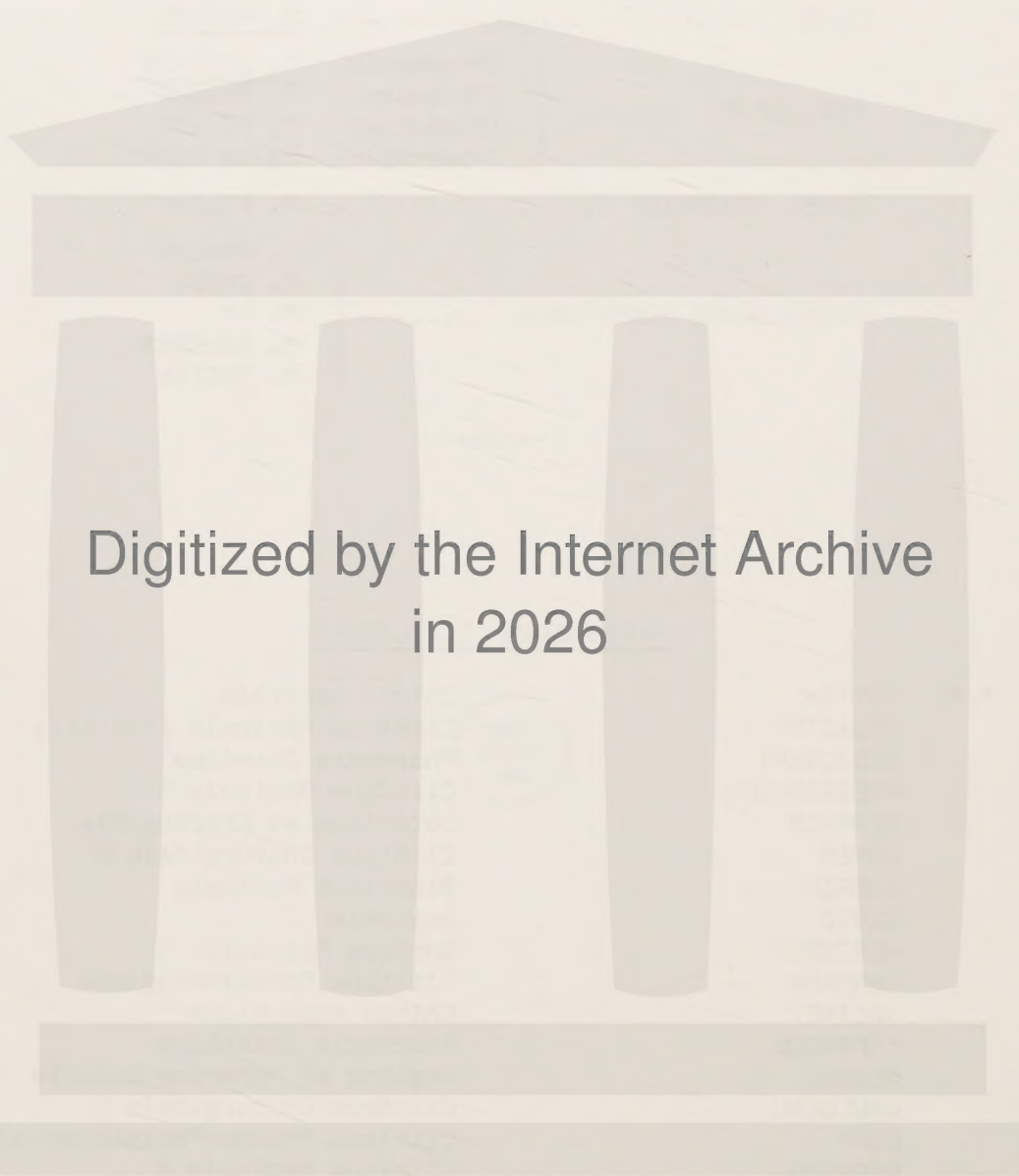
PROFESSEURS TITULAIRES

M.M. COTTIN	Chimie Générale
DELAITRE	Clinique Médicale Infantile
DESJOBERT	Pharmacie Chimique
FRESSINAUD	Clinique Médicale B
GERMAIN	Botanique et Cryptogamie
GOYER	Clinique Chirurgicale B
GUERIN	Biopsique Médicale
GUNTZ	Anatomie
HERISSET	Matière Médicale
HERMANN	Clinique Ophtalmologique
JOLIVET	Chimie analytique
LAFARGUE	Pharmacie Galénique
MENARD	Hygiène et Médecine Sociale
NAULLEAU	Clinique Chirurgicale A
OURY	Clinique Pneumo-Phtisiologique
PERREAU	Clinique Médicale A
REBEL	Histologie - Embryologie
RENIER	Clinique Rhumatologique
ROGNON	Pathologie Chirurgicale
ROUCHY	Clinique Gynécologique et Obstétricale
SIMARD	Anatomie Pathologique

PROFESSEUR TITULAIRE à TITRE PERSONNEL

HOCQUET

Parasitologie



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545912_0003

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M.M. BONNIOT	Clinique Médicale B.
JOUBAUD	Médecine Générale et Expérimentale
PARSY	O. R. L.
PERTUS	UROLOGIE
TADEI	Médecine Générale et Cardiologie

AGREGES

GODLEWSKI	Neurologie
TESTARD	Pédiatrie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

	ALLAIN	Pharmacologie
	AUGEREAU	Pharmacodynamie
	BREGEON	Rhumatologie
	CARON	Electro-radiologie
Mme	CAVELLAT	Anesthésie-Réanimation
	CAVELLAT	Anesthésie- Réanimation
	CAYEUX	Bactériologie
	COULLAUD	O.R.L. - Endoscopie
	DESNOS	Physiologie
	EMILE	Nuerologie
	FRESNEAU	Médecine Interne
	GIRAULT	Biochimie Médicale
	GROSIEUX	Gynécologie-Obstétrique
	HUREZ	Hématologie - Immunologie
	HUYGHUES-DESPOINTES	Biochimie Médicale
	LARGET-PIET	Pédiatrie Génétique
	LARRA	Histologie - Embryologie
	Le LIRZIN	Gynécologie - Obstétrique
	PILLET	Anatomie
	PILLOT	Bactériologie
	PLANE	Chirurgie Générale
Mme	PRELOT	Physiologie - Zoologie
Melle	QUERO	Microbiologie
	RIBERI	Médecine Interne
Mme	SCHNITZLER	Dermatologie - Vénéréologie

DELEGUES dans les FONCTIONS de MAITRES de CONFERENCES

ACHARD	Réanimation Médicale
MARTIN FRERE	Chimie Générale et Minéralogique
THUILLIER	Chimie - Biologie
VALTON	Médecine Légale
WARTEL	Psychiatrie

AGREGE LIBRE

THUAU	Médecine Interne
-------	------------------

Par délibération en date du 28 Janvier 1966, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A mon Mari

A mes Enfants

A mes Parents

A la mémoire de mon Beau-Père

A ma Belle-Mère

A toute ma famille

En témoignage de ma profonde affection.

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur Fressinaud
Professeur titulaire de Clinique Médicale
Chef de Service de Clinique Médicale B
Médecin des Hôpitaux

qui a bien voulu nous faire l'honneur d'accepter
la présidence de cette Thèse.

En témoignage de notre profonde
reconnaissance.

à Messieurs les Professeurs Membres de notre Jury

- Monsieur le Professeur Hurez

Maître de Conférences - Agrégé d'Hématologie-Immunologie

Médecin des Hôpitaux

qui nous a guidé dans ce travail.

Qu'il trouve ici l'expression de
notre reconnaissance

- Monsieur le Professeur Fresneau

Maître de Conférences - Agrégé de Médecine Interne

Chef de Service des Chroniques A

Médecin des Hôpitaux

Nous avons bénéficié de son enseignement pendant notre externat.

Qu'il trouve ici l'expression de
nos sentiments les plus respectueux.

- Monsieur le Professeur L. Larget-Piet

Maître de Conférences - Agrégé de Pédiatrie-Génétique

Médecin des Hôpitaux

Qui nous a fait l'honneur d'accepter
de juger ce travail.

P L A N

=====

I - Observation du malade

II - Rappel à propos des IMMUNO GLOBULINES

III - Etude des DOUBLES PICS

- 1) Fréquence générale des doubles pics
- 2) La distribution des cas rapportés selon les classes et les types d'immunoglobulines
- 3) Contexte clinique des doubles pics
- 4) Date d'apparition respective des 2 pics et leur évolution éventuelle sous traitement notamment
- 5) La méthode utilisée pour l'étude approfondie sur le plan immunoclinique des doubles pics
- 6) Problème de fond : les 2 immunoglobulines pathologiques correspondent-elles à deux clones différents ou sont-elles synthétisées simultanément par les mêmes cellules ? ...

IV - Le CARYOTYPE dans les LEUCOSES à PLASMOCYTES et dans les DYSPROTEINEMIES présentant un double pic

V - L'ETUDE des PROTIDES dans la LEUCOSE à PLASMOCYTES

VI - CONCLUSION

VII - BIBLIOGRAPHIE

Monsieur M. Emile âgé de 76 ans, retraité,
est adressé dans le Service du Profes-
seur PRESSINAUD (Clinique Médicale B)
pour une dysglobulinémie maligne.

L'existence d'une asthénie très anormale chez cet hom-
me, sans passé pathologique notable au décours d'une intervention pour
cataracte, avait amené son médecin traitant à demander le 25 Novembre
1971 un hémogramme, une vitesse de sédimentation, une urée sanguine,
des examens urinaires : glycosurie, protéinurie.

Ces examens montraient :

- 1) Une anémie modérée à 3 240 000 G.R. , une hyperleucocytose à
22 000 G.B. avec neutropénie à 7 % et une lymphocytose majeure
à 87 %. La plupart des lymphocytes présentaient un cytoplasme
nettement basophile avec un aspect général de type plasmocytaire.
- 2) Une vitesse de sédimentation peu accélérée à : 15 - 37 - 122
- 3) Une urée sanguine à 0,58 g.
- 4) une protéinurie très importante à 23 g./l.

Le diagnostic de leucémie à plasmocytes était dès
lors envisagé et le malade adressé en clinique médicale B.

EXAMEN CLINIQUE du MALADE =====

L'examen mettait en évidence :

- 1) - *une neurofibromatose cutanée* diffuse faite d'éléments monomorphes sous forme de neurofibromes disséminés sur tout le corps à l'exception des membres inférieurs et dont nous ferons désormais abstraction, bien qu'il soit intéressant de signaler la coexistence sans doute fortuite de deux maladies rares.
- 2) - *sur le plan de l'affection hématoLOGIQUE*
l'examen était par contre très pauvre :
 - .. microadénopathies jugulo-carotidiennes bilatérales de la grosseur d'un petit pois, mobiles, symétriques.
 - .. pas d'hépatosplénomégalie
 - .. pas de purpura spontané, mais des ecchymoses faciles au point de piqures.
- 3) - *l'examen neuroLOGIQUE*
était normal.
- 4) - *il n'existait pas de douleurs osseuses* ; les radiographies du squelette ne montraient rien d'autre qu'une ostéoporose sénile.

Le fait le plus frappant était l'atteinte de l'état général et l'asthénie physique et psychique qui s'opposait à toute activité et entraînait une certaine somnolence.

EXAMENS COMPLEMENTAIRES =====

- Un *bilan hématoLOGIQUE* pratiqué à l'entrée dans le Service le 28 Novembre confirmait :
 - l'anémie à 2 380 000 G.R.
 - l'hyperleucocytose à 25 600 G.B.
 - la plasmocytose périphérique à 75,5 %
 - une thrombopénie majeure à 30 000 plaquettes
 - une vitesse de sédimentation sub-normale à 10 - 25.

les autres fractions étant à

1,5 g/l pour α_1 ,

3,5 g/l pour α_2

4 g/l pour β

nous reviendrons ultérieurement sur l'étude approfondie des protéines sériques.

- le *bilan lipidique* était perturbé

- hypocholestérolémie à..... 0,79 g/l

- lipides totaux à 3,47 g/l

- le *bilan rénal* montrait :

- une protéinurie majeure de 23,9 g/ 24 h. avec présence d'une seule fraction globulinique à l'électrophorèse des urines

- une insuffisance rénale traduite par une urée sanguine à 0,66 g/l, une urée urinaire à 8,5 g/24 heures.

- une clairance à la créatinine à 22 ml/heure avec créatinémie à 27 mg/l.

- une clairance de la P.S.P. à 13,5 % à la 10ème minute
49 % à la 70ème minute

- le *bilan phospho calcique* était normal

- calcémie 99 mg/l

- phosphorémie 48 mg/l

- un *myélogramme* pratiqué à la même date montrait une moelle très dense présentant une très forte infiltration par des plasmocytes et des cellules plasmocytoïdes, certains en placards avec diminution importante des autres lignées.

- Il existait des *troubles de la crase sanguine* outre la thrombopénie :

. une petite anomalie de la thrombo-plastinoformation en rapport avec une hypo-accélérinémie (66 %)

. un déficit global du complexe prothrombique (60 %)

. l'existence d'une antithrombine de type V thermostable ; il s'agissait d'une euglobuline précipitable à pH 6,5 à action directe, localisée dans la fraction anormalement augmentée des IgG sériques.

- le bilan protidique indiquait .
 - une hypoprotidémie à 12 mg/l soit 47 g/l avec hypoalbuminémie : 30 g/l
 - l'existence de 2 petits pics migrant avec les γ globulines :
 - l'un lent 4 g/l
 - l'autre un peu plus rapide , 4 g/l
- L'étude des vaisseaux du fond d'oeil était rendue impossible par la cataracte.
- étude approfondie des protéines sériques et urinaires pathologiques, des plasmocytes anormaux par immunofluorescence et du caryotype de ces cellules.

I - ETUDE des PROTEINES SERIQUES et URINAIRES

=====

a) Les protéines sériques

L'électrophorèse en acétate de cellulose ayant révélé les deux pics bien nets dans la région de γ globulines, on a tenté de les caractériser par toute une série d'immunoélectrophorèses en utilisant de nombreux antisérums spécifiques. La technique d'immunoélectrophorèse employée a été la méthode usuelle : électrophorèse en agarose à pH : 8,6.

Les immuns sérums utilisés ont été les suivants :

- antisérums de cheval, antisérum humain
- antisérums de chèvre : anti Ig A
 - Ig M
 - Ig G
- antisérums de lapin : anti Kappa
 - anti-Lambda

Le pic le plus rapide était facilement identifié, il était révélé exclusivement par les antisérums anti-lambda.

Par contre, le pic lent a été plus difficile à caractériser, il était facilement révélé par divers antisérums anti-gamma et anti-Fe, mais il était malaisé de préciser les chaînes légères contenues dans cette immunoglobuline pathologique. Finalement grâce à l'emploi

de plusieurs antisérums d'origine différente, nous avons conclu qu'il était constitué par une Ig G de type Lambda.

On a procédé à un dosage des diverses immunoglobulines sériques par la technique d'immunodiffusion radiale de Mancini.

Ainsi qu'il est visible dans le tableau ci-dessous, les taux des immunoglobulines physiologiques résiduelles sont extrêmement bas.

CONCENTRATION en mg/ 100 ml

	Emile M. ...	Sujet normal adulte
Ig G	440	1170 $\pm$ 270
Ig A	14	220 $\pm$ 80
Ig M	32	120 $\pm$ 50

b) La protéine urinaire

Le pic sérique évident à l'électrophorèse des urines était facilement identifié par immunoélectrophorèse avec les mêmes antisérums spécifiques : il était constitué exclusivement des chaînes légères de type lambda ; en dehors de cette protéinurie de Bence-Jones typique, on notait seulement la présence de traces d'albumine.

Notons que le caractère traditionnel de thermo solubilité de cette protéinurie n'était pas retrouvé : elle précipitait à 56 ° mais ne se redissolvait pas à 100 °.

II - ETUDES en IMMUNOFLUORESCENCE

Ces études ont été réalisées sur la moelle et sur le sang périphérique, les résultats étaient identiques sur les deux prélèvements, nous les donnerons ci-dessous de manière globale ; on trou-

vera les détails de la méthodologie employée dans un article récent de Hijmans (35).

Les frottis sanguins et médullaires lavés et fixés ont été traités par les antisérums spécifiques conjugués suivants :

- anti γ A	}	conjugués à l'isothiocyanate de fluorescéine
- anti γ M		
- anti γ G		
- anti Kappa		

- anti-lambda conjugué à la rhosamine.

Les résultats de ces examens ont été les suivants :

- négativité pratiquement complète avec les antisérums anti γ A, anti γ M et anti Kappa .
- un très faible pourcentage des cellules réagissait avec l'antisérum anti γ G (environ 1 %), par contre, la quasi totalité des plasmocytes présents en grand nombre sur ces frottis étaient fluorescents avec l'antisérum anti-lambda.

Nous avons donc décidé d'essayer de préciser la situation grâce aux antisérums de coloration différente :

- vert pour la fluorescéine
- rouge pour la rhodamine.

Nous avons successivement employé la combinaison antilambda rouge et antigamma vert d'une part, d'autre part antilambda rouge et anti Kappa vert.

Nous avons ainsi confirmé que les très nombreux plasmocytes contenant la chaîne légère lambda ne renfermaient pas de chaînes lourdes gamma. Inversement un très faible pourcentage de cellules était de coloration mixte (jaune) contenant à la fois les chaînes gamma et lambda. Quelques très rares cellules réagissaient seulement avec l'antisérum antigamma et ne renfermaient apparemment aucune chaîne légère. Enfin, on a retrouvé un très petit nombre (moins de 1 pour 1000) de cellules de type γ G K correspondant très vraisemblablement au reliquat des immunoglobulines physiologiques abaissées.

EN CONCLUSION : Ces études immunoélectrophorétiques et immunocytolo-
===== giques nous permettent de penser qu'il s'agit d'un
authentique double pic. En effet les résultats des études sériques et
urinaires concluaient à l'existence d'une Ig G L associée à une protéi-
némie de Bence-Jones du même type Lambda et ne nous autorisaient pas à
parler de véritable double pic, puisque cette association est relative-
ment banale. Par contre, il nous semble que les études des immunofluo-
rescences grâce au double marquage nous permettent de conclure à l'exis-
tence d'une double population cellulaire non distinguable morphologique-
ment : l'une de loin prédominante synthétisant exclusivement les chaînes
légères lambda, l'autre minoritaire sécrétant l'immunoglobuline entière
Ig G L. Néanmoins, il est très possible qu'à l'origine il n'existait
qu'un seul clone de plasmocytes malins s'étant différencié en deux sous-
populations par perte du pouvoir de synthèse des chaînes lourdes. De
tels faits sont connus pour les plasmocytomes de la souris. On ne doit
pas s'étonner de la disproportion considérable de ces deux populations
plasmocytaires bien que les deux pics sériques soient d'importance quan-
titative similaire, les chaînes légères, on le sait, franchissent très
vite le filtre rénal (et d'ailleurs on se souviendra de la protéinurie
considérable). Ces petites molécules ont une demi-vie beaucoup plus
courte que celles des immunoglobulines entières.

Nous regrettons de n'avoir pu étudier de manière plus
approfondie les protéines et les cellules de ce cas privilégié, mais
le malade est décédé peu de temps après son entrée et nous n'avons pu
procéder à d'autres explorations intéressantes. Il aurait été notamment
très instructif de procéder à des études de synthèse in vitro en culti-
vant les plasmocytes du patient : En effet, il aurait fallu démontrer
de manière plus formelle l'absence de chaînes lourdes dans les cellules
de type lambda qui peut n'être qu'apparente par immunofluorescence.

De plus, il aurait été souhaitable de disposer de gran-
des quantités de sérum du malade pour séparer chimiquement les 2 pics
et les étudier de manière très complète selon le protocole défini dans
le chapitre V.

III - RESULTATS du CARYOTYPE

Les études caryotypiques pratiquées à partir de la moelle de 48 heures avec phytohémagglutinine ont donné les résultats suivants :

Nombre de cellules	Nombre de CHROMOSOMES	CHROMOSOMES Manquants
2	45	C
1	45	G
1	45	E
1	43	C, C, D
1	41	C, C, C, D, F
1	42	C, E, E, G
1	44	A, E
1	40	A, C, C, C, E, F
4	46	
TOTAL 13		

A peine $\frac{1}{3}$ des cellules examinées étaient normales. Les autres étaient toutes hypodiploïdes : perte anarchique de chromosomes avec, cependant, une *prédominance pour le groupe C*, le nombre modal variant de 40 à 45.

MODES PRINCIPAUX

Nombre de mitoses	40	41	42	43	44	45	46
13	1	1	1	1	1	4	4

GROUPES TOUCHES

A	B	C	D	E	F	G
2		4	2	4	2	2

EVOLUTION

=====

Après une amélioration initiale sous l'effet de transfusions de sang déplasmatisé et de perfusions d'albumine, le malade meurt brutalement le 15 Décembre 1970 dans un collapsus rapidement irréversible dont la cause, en l'absence de vérification anatomique, ne peut être précisée.

RAPPEL à PROPOS des IMMUNOGLOBULINES

Avant d'aborder le problème des doubles pics, nous ferons un bref rappel à propos des immunoglobulines normales.

1 - La définition

On appelle immunoglobulines non seulement les diverses globulines sériques douées d'activité anticorps connue, mais encore certaines protéines apparentées aux anticorps par leur structure chimique et par conséquent par leur structure antigénique.

2 - La classification

Actuellement, on connaît cinq classes d'immunoglobulines normales .

- Ig G
- Ig A
- Ig M
- Ig D
- Ig E

3 - La structure

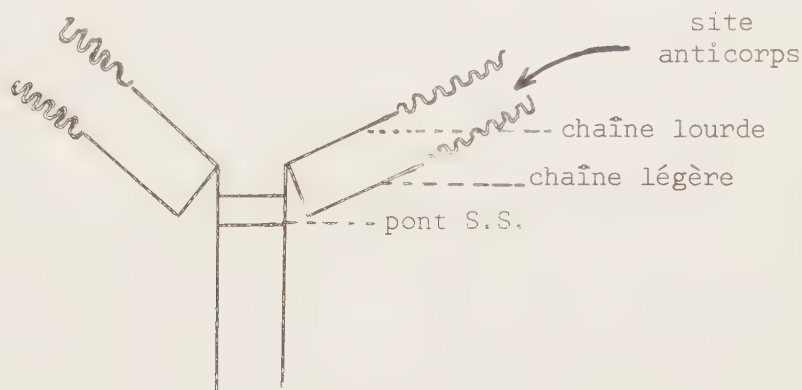
La caractéristique majeure de ces globulines sériques réside dans leur *hétérogénéité*. Toutefois, elles comportent toutes une structure fondamentale commune qui est la suivante ; chaque molécule est formée de 4 chaînes polypeptidiques :

- 2 chaînes lourdes
- 2 chaînes légères

Chaque chaîne légère étant liée à la chaîne lourde par un pont disulfure

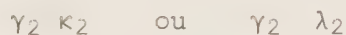
et chacune des 2 chaînes lourdes étant liées entre elles par 2 ou plus ponts S.S.

Nous représenterons schématiquement à titre d'exemple la molécule d'Ig G globuline :



- les chaînes lourdes : sont spécifiques de chaque classe, d'où les symboles γ , α , μ , δ , ϵ , correspondant à chacune des classes Ig G, Ig A, Ig M, Ig D, Ig E
- les chaînes légères : au contraire sont communes à l'ensemble des classes mais on les distingue en deux types antigéniques différents :
 - chaînes Kappa (65 %)
 - chaînes Lambda (35 %)

Une molécule d'immunoglobuline renferme toujours deux chaînes légères du même type antigénique jamais des 2 types à la fois.
exemple : une Ig G présente la formule moléculaire suivante :



4 - Caractéristiques

Les principales caractéristiques des immunoglobulines sont représentées dans le tableau suivant :

	Ig G	Ig A	Ig M	Ig D	Ig E
Constante de sédimentation	7 S	17 S + polymère 7 à 17 S	18 à 20 S	7 S	8 S
Masse moléculaire	155 000	170 000	900 000 (5x180 000)	155 000	125 000
Tx sérique normal de l'adulte mg/ml	9 - 15	1 - 3	0,7 - 1,7	0,003 - 0,14	0,0001 - 0,0014
demi-vie (jours)	24	6	5	3	7
Secrétions exocrines		+			
Fixation du C'	+		+		
transfert placentaire	+				
Anaphylaxie cutanée passive	+				
Réagines					+
Formules moléculaires	$\gamma_2 \kappa_2$	$\alpha_2 \kappa_2$	$\{\mu_2 \kappa_2\}^5$	$\lambda_2 \kappa_2$	$\epsilon_2 \kappa_2$
	$\gamma_2 \lambda_2$	$\alpha_2 \lambda_2$	$\{\mu_2 \lambda_2\}^5$	$\lambda_2 \lambda_2$	$\epsilon_2 \kappa_2$

En opposition avec les immunoglobulines normales très hétérogènes comme nous venons de le rappeler, les immunoglobulines pathologiques (du myélome, de la maladie de Waldenström et autres dysglobulinémies apparentées), sont relativement très homogènes, ceci explique le classique " *pic électrophorétique* ". On démontre qu'elles sont composées d'une seule classe et même sous-classe de chaînes lour-

des, qu'elles portent les mêmes allotypes, que leurs chaînes légères sont exclusivement d'un même type Kappa ou Lambda, d'où le qualificatif " monoclonal " qui leur est communément appliqué.

Dans l'immense majorité des cas, il n'existe dans le sérum de ces malades qu'un seul pic de globulines monoclonales ; la grande rareté des pics doubles, voire triples, nous a paru justifier le présent travail.

ETUDE des DOUBLES PICS

Notre malade, Monsieur Emile M. atteint de leucose à plasmocytes et présentant dans son sérum un double pic dans la région des γ G globulines révélé à l'électrophorèse sur acétate de cellulose, nous a conduit à étudier les doubles paraprotéines.

La présence de ce double pic chez notre malade nous intéresse d'autant plus qu'il ne semble pas avoir été rapporté dans la littérature jusqu'à ce jour, de leucoses à plasmocytes avec un double pic.

Dans ce chapitre, notre propos sera de tenter de cerner aussi étroitement que possible le problème des doubles pics.

Nous verrons donc successivement :

1. - la fréquence générale des doubles pics
2. - la distribution des cas rapportés selon les classes et les types d'immunoglobulines
3. - le contexte clinique des doubles pics
4. - la date d'apparition respective des 2 pics et leur évolution éventuelle sous traitement notamment.
5. - les méthodes utilisées pour l'étude approfondie sur le plan immunochimique des doubles pics
6. - pour arriver enfin au problème de fond : les 2 protéines anormales correspondent-elles à deux clones cellulaires différents ou sont-elles synthétisées par le même clone cellulaire ? ..

1 - La FREQUENCE GENERALE

Les doubles pics sont intéressants du fait de leur rareté. En effet, comme nous l'avons dit dans la quasi totalité des dysglobulinémies, le sérum des sujets atteints contient une seule paraprotéine à l'électrophorèse et à l'immunoélectrophorèse. Certes dans un pourcentage relativement important de cas, des traces d'un composant accompagnant le composant principal ont été signalées (Laurell - 48) ; par contre les pics doubles authentiques sont presque exceptionnels : une étude attentive de la littérature nous a permis d'en relever 102 cas.

Le Tableau I donne les fréquences des pics doubles relevés par différents auteurs dans leur propre laboratoire. En moyenne, cette fréquence se situe aux alentours de 1 % ; le chiffre donné par Drivsholm (19) nous paraît anormalement élevé. Il inclut certainement des " faux doubles pics " (voir plus loin) ou des cas du type de ceux signalés par Laurell (48) avec traces d'un second constituant que nous avons volontairement exclu de la statistique générale.

De toute façon, il ne faudrait pas considérer cette valeur moyenne de 1 % comme absolue pour diverses raisons :

1) - le recrutement

En effet, nous rappellerons que le recrutement des laboratoires varie : ainsi un laboratoire hautement spécialisé possédera en pourcentage un nombre de doubles pics beaucoup plus important que celui qui exécute des examens du tout venant, du fait non seulement qu'il sera orienté vers les dysprotéinémies, mais encore qu'il pourra par des méthodes et une instrumentation plus précises les mettre en évidence : c'est ainsi que Axelsson sur une étude de 6995 échantillons d'adultes réputés normaux ne rencontre que 2 fois l'association de 2 globulines anormales (Ig M + Ig G) alors que Bachmann (5) sur 585

TABLEAU n° 1

STATISTIQUE GENERALE des DOUBLES PICS
=====

AUTEURS	Nombre de SERUMS Etudiés	Nombre de SERUMS avec double pic	%
Bachmann (5)	585	7	1,19
Brackenridge (10)	250	2	0,8
Drivsholm (19)	105	15	(14,3)
Fahey (71)	802	9	1.12
Fateh-Moghadam (24)	1568	5	0,4
Fine (25)	98	1	1.02
Hobbs (37)	380	5	1.31
Imhof (39)	390	6	1.41
Laurell (in 71)	500	4	0.8
Osserman (62)	351	1	0,28
Rousselet (in 3)	565	0	0
Seligmann (74)	1095	21	2
Zawadzki (82)	200	3	1,5

sérums trouve 7 doubles pics ; ce dernier d'ailleurs explique son pourcentage relativement important par une sélection des sérums envoyés à son laboratoire.

2) - la non publication

Il est certain qu'un bon nombre de laboratoires n'ont pas cru devoir publier en tant que tels les cas qu'ils ont décelés. C'est ainsi que Danon (16) travaillant chez le Professeur Seligmann ne fait que mentionner brièvement l'existence des 21 cas de doubles pics sur 1095 sérums et n'a jamais publié en détail à ce sujet.

3) - la méthodologie

De plus le pourcentage peut paraître différent d'un laboratoire à un autre selon la méthodologie employée pour les mettre en évidence. Les études des sérums pathologiques pratiquées il y a une dizaine d'années comportaient essentiellement des électrophorèses sur papier qui peuvent très bien laisser échapper un double pic. Les études plus récentes emploient généralement divers supports d'électrophorèse : acétate de cellulose, gel d'amidon et sont devenues nettement plus discriminatives , mais de toutes façons il semble bien que plusieurs modes d'électrophorèse doivent être utilisés si l'on ne veut laisser échapper aucun de ces doubles pics. Ainsi, l'électrophorèse sur papier se montre souvent insuffisante. Bachmann (5) sur les 7 cas possédant les 2 composants $\gamma G + \gamma A$ ne les a observés facilement que deux fois, dans les autres cas l'une des globulines pathologiques était bien distincte et l'autre pouvait seulement être suspectée. Cet auteur signale d'autre part, que quelques immunoglobulines anormales de type γM de faible concentration passent souvent inaperçues car au moins la moitié de celles-ci ne pénètrent pas le gel d'agar sans un traitement de cystéine qui n'est utilisé seulement que dans des indications spéciales.

De même Sanders (72) rapporte trois cas dont l'électrophorèse ne montrait qu'un seul pic au niveau des γ globulines ; c'est seulement à l'immunoélectrophorèse que les immunoglobulines anormales étaient révélées. Lièvre (51) observe lui aussi une discordance entre les données de l'électrophorèse en cellogel (2 bandes γ) et celles de l'immunoélectrophorèse en gélose (1 paraprotéine Ig G κ), différence

due sans doute au pouvoir de résolution ou de séparation électrophorétique plus importante pour le cello-gel.

En résumé il semble bien que le chiffre moyen de 1 % soit sous-estimé.

DEFINITION LIMITATIVE des DOUBLES PICS

La fréquence générale des doubles pics dans les paraprotéïnémies étant établie, nous allons essayer dans ce chapitre de définir les véritables doubles pics en éliminant successivement :

- A - La Bence-Jones sérique accompagnant une immunoglobuline pathologique entière.
- B - La γ A polymérique
- C - l'association γ A avec d'autres protéines
- D - Certaines γ G qui présentent des phénomènes d'hétérogénéité.
- E - dégradation des globulines.

- A/ la Bence-Jones sérique

Ce problème de la protéinémie de Bence-Jones a été particulièrement bien étudié par Solomon et Fahey (75). On sait que dans un fort pourcentage de myélomes (70 %), il existe une protéinurie de Bence-Jones faite de chaînes légères d'un seul type antigénique (Kappa ou Lambda), le même que celui des chaînes incluses dans la protéine entière.

Il est évident que cet excès de chaînes légères est fréquent à un moment donné dans le sérum, mais l'on sait que la protéinémie de Bence-Jones est rarement retrouvée à l'électrophorèse ou à l'immunoélectrophorèse. En effet, ces molécules de faible poids moléculaire franchissent très rapidement le filtre rénal et n'ont pas le temps d'atteindre une concentration suffisante dans le sérum pour être détectées par les moyens habituels. Toutefois, elles peuvent en cas d'atteinte rénale sévère s'accumuler en quantité assez importante dans le sérum pour être mises en évidence. Ces cas ne sont pas très rares et doivent être exclus des vrais doubles pics puisque par définition ils sont issus des mêmes cellules, la protéine de Bence-Jones représen-

tant une production excédentaire de chaînes légères en supplément de la globuline monoclonale entière.

Par contre, on retiendra comme véritables doubles pics les cas associant une immunoglobuline entière et une protéine de Bence-Jones d'un type antigénique différent de celui de la protéine complète. C'est le cas d'un malade étudié par Imhof possédant une Ig G κ sérique et une Bence-Jones λ sérique et urinaire.

De même, nous pensons pouvoir considérer notre propre cas comme un pic double véritable. Certes le sérum renferme une Ig G L et des chaînes légères de type Lambda, mais nos études en immunofluorescence semblent bien démontrer l'existence de 2 clones cellulaires différents synthétisant chacun une des deux immunoglobulines pathologiques. Evidemment, il nous est impossible d'affirmer que le clone à chaînes légères Lambda ne dérive pas du premier par perte de la capacité de synthèse des chaînes lourdes gamma.

-B/ la γ A polymérique

La présence de multiples immunoglobulines pathologiques, du moins apparente, peut aussi être expliquée par le phénomène de polymérisation, phénomène assez fréquent avec les γ A. Ainsi parmi les cinq cas que nous avons retrouvés dans la littérature présentant l'association γ A + γ A du même type de chaînes légères, sont très vraisemblablement dus à un phénomène de polymérisation (Onodera {61} - Vaerman {78}).

Par contre, nous ne pouvons trancher en faveur d'un double pic authentique ou non pour les sérums étudiés par Harboe (32) et Brackenridge (10), les chaînes légères des deux globulines γ A pathologiques n'ayant pas été typées, du moins à notre connaissance.

Mais le cinquième cas (Fateh-Moghadam {24}) peut être considéré comme un véritable double pic, chaque γ A possédant une chaîne légère de type différent.

Toutefois, l'association γ A + γ A même avec des chaînes légères de type identique ne doit plus être nécessairement considérée

comme due à une polymérisation ; on pourrait imaginer l'existence d'un pic γ A appartenant à la sous-classe γ A₁ , le second à la sous-classe γ A₂. A notre connaissance, cette association n'a jamais été rapportée, il faut dire que la découverte de ces sous-classes d'immunoglobulines est relativement récente (44).

- C/ l'association de la γ A avec d'autres protéines

Ainsi que l'avait déjà noté Heremans (33), Kistner et Nordberg (43) rappellent que la découverte de 2 composants peut souvent être expliquée par l'association entre la protéine myélomateuse et une autre protéine du sérum (cette dernière étant souvent l'albumine) ; association réalisant un composant différent de la protéine myélomateuse.

- D/ certaines γ G présentant des phénomènes d'hétérogénéité

Enfin, certains doubles ou multiples pics Ig G en particulier peuvent s'expliquer par l'hétérogénéité moléculaire de certaines Ig G.

On sait d'autre part que des milieux comme le gel d'amidon, le gel d'acrylamide ont un pouvoir résolutif élevé faisant apparaître plusieurs bandes là où il n'en existait qu'une à l'électrophorèse sur papier , ainsi Fine (25) note que sur 30 paraprotéines reliées à la β_2 A globuline, douze étaient hétérogènes en gel d'amidon.

Parmi les paraprotéïnémies doubles Ig G + Ig G relevées dans la littérature qui sont au nombre de 6, nous pouvons peut-être expliquer la présence du double pic à l'électrophorèse par ce phénomène en particulier chez les patients présentés par Lièvre (51) d'une part et Auquier (3) d'autre part : en effet nous sommes en présence dans les deux cas de 2 paraprotéines identiques (Ig G κ) dont la différence joue sur la seule mobilité électrophorétique, les caractéristiques étant identiques.

Toutefois, il est possible que certaines associations γ G + γ G représentent des pics doubles véritables même si les chaînes légères sont du même type, mais pour le démontrer il faudrait par

exemple avoir déterminé les allotypes Gm portés par les chaînes lourdes et I η ν portés par les chaînes légères ce qui n'a pas été fait dans les deux observations mentionnées ci-dessus.

- E/ dégradation

Enfin, il faut se méfier de fausses interprétations dues à la dégradation in vitro des globulines sériques sur des échantillons contaminés qui peuvent artificiellement donner des images de pics multiples.

II . : DISTRIBUTION des CAS RAPPORTES :
: selon les CLASSES et les TYPES :
:

La fréquence d'une seconde immunoglobuline détectable à l'électrophorèse ou l'immunoélectrophorèse dans les paraprotéïnémies se situe, comme nous l'avons vu précédemment, aux environs de 1 %. Il ressort du tableau II que la distribution la plus commune est l'association $\gamma G + \gamma A$; association dominant les autres puisque nous la retrouvons 36 fois sur 102 ; ensuite nous avons les associations suivantes :

$\gamma G + \gamma A$	<u>36 fois</u>
$\gamma G + \gamma M \rightarrow$	19 "
$\gamma G + \gamma G \rightarrow$	6 "
$\gamma G + \gamma D \rightarrow$	1 "
$\gamma A + \gamma M \rightarrow$	5 "
$\gamma A + \gamma A \rightarrow$	5 "
$\gamma A + \gamma G + \gamma M \rightarrow$	1 "
$\gamma G + \beta j \text{ urinaire} \rightarrow$	2 "
$\gamma A + \beta j \text{ urinaire} \rightarrow$	1 "
$\gamma G + \beta j \text{ sérique} \rightarrow$	1 "
cas non précisés ...	25 "

L'association $\gamma G + \gamma D$ n'a été rapportée qu'une seule fois, ceci n'a rien d'étonnant en raison de la faible quantité de cette immunoglobuline dans le sérum humain et partant du petit nombre de plasmocytes qui synthétisent cette variété d'immunoglobulines. Notons que la grande majorité des γD myélomes publiés sont de type lambda (84 %). Précisément dans le seul cas de l'association $\gamma D + \gamma G$ (22) les 2 paraprotéines possèdent le même type de chaînes légères lambda.

A signaler d'autre part que l'association de la γE avec une autre globuline n'a encore jamais été signalée. On sait ce carac-

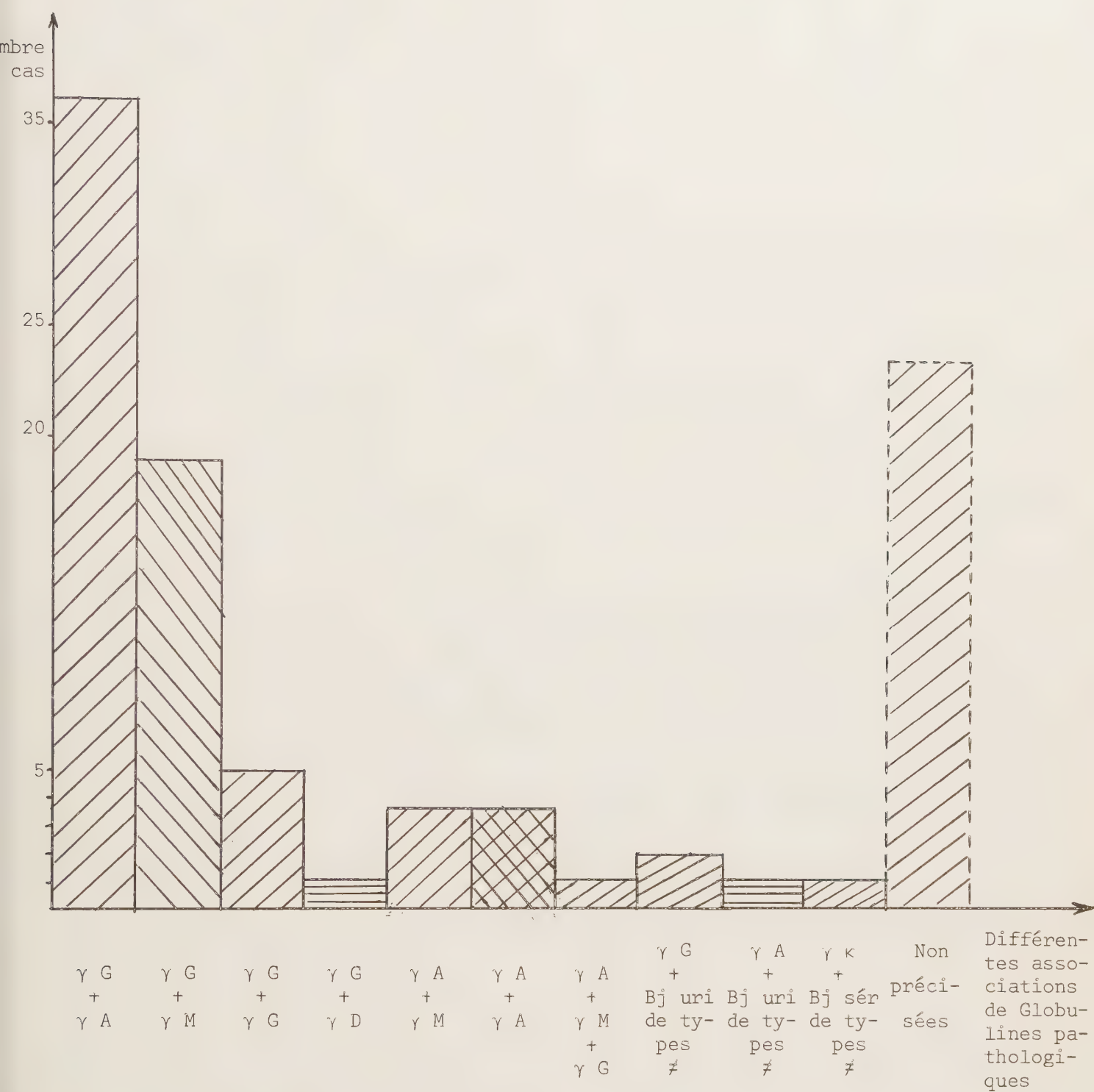
tère exceptionnel de Ig E myélome : 2 seulement dans la littérature mondiale (41,57).

Enfin, nous rapporterons le cas de pics triples que nous avons relevé dans la littérature. Nous avons volontairement exclu de notre tableau les cas mentionnés par Gilbert (28) et Jensen (41) ne possédant aucun renseignement sur leurs travaux. Par contre, nous avons retenu le cas de Sanders (72) ayant eu la possibilité de connaître l'étude approfondie de son malade atteint de Maladie de Waldenström et présentant dans son sérum l'association : $\gamma A + \gamma M + \gamma G$, toutes trois de type κ .

Nous reviendrons plus loin sur les intéressantes études de cet auteur en ce qui concerne la synthèse cellulaire de ces trois immunoglobulines pathologiques.

Notons aussi que Fine (25) et Arquembourg (2) auraient trouvé trois immunoglobulines pathologiques dans le sérum de leur patient.

	$\gamma G + \gamma A$	$\gamma G + \gamma M$	$\gamma G + \gamma G$	$\gamma G + \gamma D$	$\gamma A + \gamma M$	$\gamma A + \gamma A$	$\gamma A + \gamma M + \gamma G$	$\gamma G + B_j$ unin. $\frac{1}{2}$	$\gamma A + B_j$ unin. $\frac{1}{2}$	$\gamma G + B_j$ séri. $\frac{1}{2}$	non précisé	Réf.
Alami			1									1
Auquier			1									3
Axelsson	1	2										4
Bachmann	7	1										5
Bjerrum		1										9
Brackenridge					1	1						10
Costea	1											13
Curtain		1										14
Dammaco									1			15
Danon	3											16
Debray-Sachs	1											17
Dittmar	1											18
Drivsholm					1						14	19
Engle								1				21
Fahey				1								22
Fateh-Moghadam	2		2			1						24
Fine	1											25
Fudenberg		1										26
Hallen	1											31
Harboe						1						32
Heremans	1	1										33
Hobbs											5	37
Hurez					1							38
Imhof	2	1	1		1					1		39
Kistner	1											43
Kjeldsen		1										44
Korngold	1				1							45
Laurell	2										2	in 71
Lièvre			1									51
Maldonado								1				53



III - CONTEXTE CLINIQUE des DOUBLES PICS

La coexistence de deux ou plusieurs immunoglobulines anormales pose la question suivante : existe-t-il un échantillon clinique ou cytologique caractéristique de cette anomalie ?

Quoique le total des cas soit peu important, l'échantillon clinique semble correspondre étroitement à l'identité de l'immunoglobuline anormale prédominante : en effet, d'une façon générale nous avons relevé un tableau clinique de myélomes quand les γ G ou γ A étaient augmentées de façon massive et un tableau de macroglobulinémie de Waldenström lorsque les γ M dominaient.

D'autre part à côté des maladies de Kahler nous avons trouvé quelques rares cas de cancers et des désordres lymphoprolifératifs malins qui étaient accompagnés de plusieurs immunoglobulines pathologiques ; selon Seligmann (74) et Maldonado (53) la fréquence de la double paraprotéïnémie serait peut-être plus importante dans ces cas.

Il nous a paru intéressant de dresser un tableau récapitulatif des cas cliniques que nous avons relevés dans la littérature s'accompagnant de doubles pics.

Comme nous allons le constater, le myélome domine largement toutes les autres étiologies.

<u>myélomes</u>	<u>60</u>
cancers	3
réticulosarcomes	2
plasmocytomes	2
lymphosarcomes	3
lymphome	1
Waldenström	3
myélome + polycythémie	1
hémopathie maligne de la série lymphoïde	3
Diagnostics non précisés	24
TOTAL	102

Ainsi donc si nous pouvons conclure en disant qu'il existe un tableau clinique typique des doubles pics, nous pouvons par contre affirmer que tous les patients présentant une paraprotéïnémie double ont une maladie maligne (myélome, Waldenström, cancer). On sait en effet que l'attention a été attirée à plusieurs reprises (Danon {16}) au cours des dernières années sur la fréquence des immunoglobulines monoclonales en dehors du myélome accompagnant non seulement des affections malignes, mais encore des maladies bénignes. Or à notre connaissance, aucun cas de double pic n'a été rapporté chez un sujet atteint d'une affection non maligne.

IV -

DATE d'APPARITION RESPECTIVE des DEUX PICS et leur
EVOLUTION EVENTUELLE sous TRAITEMENT NOTAMMENT .

Certains auteurs (Auquier {3}, Bachmann {6}, Costea {13}, Dittmar {18} , Lièvre {51} , Rosen {70} , Sanders {71} , Seligmann {74} et tout récemment Oxelius {63}) font état de plusieurs diagrammes électrophorétiques au cours de certaines paraprotéïnémies doubles. Aussi nous a-t-il paru intéressant d'étudier leur évolution éventuelle au cours de la maladie et notamment sous traitement.

Bachmann (5) et Auquier (3) rapportent respectivement 6 et 5 électrophorèses réparties dans le temps sur le sérum de leurs malades ; ils n'ont constaté aucun changement, aucune amélioration de l'électrophorèse, les 2 pics présents dès le premier examen ont toujours persisté inchangés malgré le traitement ; en l'occurrence du Melphalan pour le malade rapporté par Auquier, alors que Bachmann ne signale pas si son patient a été traité. Dittmar (18) se trouve en accord avec ces deux auteurs puisque sur une période de 7 mois, les électrophorèses restent identiques alors que le malade était sous cyclophosphamide et phosphore radio-actif.

Seligmann (74) pour sa part signale une augmentation de l' Ig M juste avant la mort dans le cas rapporté associant Ig A + Ig M.

Costea (13) par contre ayant étudié 4 fois le sérum de son malade constate l'évolution suivante :

- 1 seul pic au niveau des β au début de la maladie
- la deuxième électrophorèse pratiquée quelques mois plus tard alors que le malade est sous Melphalan montre l'apparition d'un deuxième pic dans la région des γ .

- une troisième montre deux pics distincts : γ et β .
- enfin un quatrième examen montre un seul pic dans la région des β .

Les sérums étudiés par Rosen (70) et Sanders (71) montrent une évolution semblable : les premières électrophorèses décèlent un pic, les malades sont mis sous traitement (Melfalan ou Chlorambucil), une deuxième électrophorèse est alors pratiquée, cette dernière révèle 2 pics et dans 1 cas : 3 (Sanders (71)). Ces résultats restent inchangés ultérieurement.

Le cas rapporté par Lièvre (51) est particulièrement intéressant car c'est le seul où l'on constate la disparition d'un pic sous traitement. En effet, après l'ablation du plasmocytome iliaque suivi d'un traitement médical comportant Prednisone et cyclophosphamide, il y a disparition complète de la bande dans la région des γ et persistance du second pic.

Enfin, il est intéressant de rapporter le cas publié par Oxelius car le malade étudié présente deux paraprotéines pathologiques apparaissant successivement au cours de l'évolution de la maladie. La première électrophorèse révèle : une Ig D L + B j L. Le patient est mis sous cyclophosphamide, après 8 mois de traitement, on constate une diminution importante de l'Ig D L, puis une apparition d'un nouveau pic Ig G κ et enfin, à la période terminale, on constate une réactivation du clone Ig D L.

En raison d'une part du petit nombre de cas publiés dans la littérature mondiale, et d'autre part de leur caractère hétérogène, il est difficile de vouloir en tirer des conclusions sur le plan général. Cependant, il ressort avec une certaine fréquence que :

- sous traitement (Melfalan - Chlorambucil - cyclophosphamide) on assiste à une stabilisation (Auquier {3}, Bachmann {5}, Dittmar {18}) , voire à une disparition d'un des pics (Lièvre {51}).
- lors de la phase terminale, il existe une réactivation du taux des immunoglobulines pathologiques (Seligmann {74}, Costea {13}, Oxelius {63}).
- Quant à l'apparition d'un nouveau pic au cours de l'évolution (Costea {13}, Sanders {71}, Rosen {70}), pic de caractère transitoire, elle n'apparaît pas significative.

Méthodes utilisées pour l'étude approfondie sur le plan :

IMMUNOLOGIQUE des DOUBLES PICS

Nous nous proposons de donner ci-dessous la liste des méthodes utilisées par les divers auteurs pour l'étude de leurs doubles pics d'un point de vue :

- chimique
- physique
- électrophorétique

Les études sur le plan cellulaire seront décrites dans le chapitre suivant.

1 - Méthodes électrophorétiques

Selon la date de publication plus ou moins reculée, l'étude a été faite par électrophorèse : sur papier, gel de gelose ou d'agarose, acétate de cellulose, gel d'amidon ; les valeurs discriminatives inégales de ces diverses méthodes ont déjà été envisagées.

2 - Séparation éventuelle et purification des 2 pics

Les auteurs ont tour à tour utilisé :

- l'électrophorèse préparative en bloc de Pevikon
- la chromatographie sur D.E.A.E. cellulose avec élution par gradient de molarité.
- gel filtration sur colonne de Sephadex de différentes porosités.

3 - Analyse chimique et immunochimique des 2 pics

- immunoélectrophorèse avec antisérums spécifiques dirigés contre les différentes classes de chaînes lourdes et les types de

chaînes légères.

- ultracentrifugation analytique.
- isolement des chaînes lourdes et légères de chacun des 2 pics par réduction - alkylation de la molécule entière suivi de leur analyse en gel d'amidon-urée ou gel de polyacrylamide.
- cartes peptidiques sur les produits d'hydrolyse de ces chaînes
- analyse partielle des séquences d'acides aminés composant les chaînes polypeptidique.
- détermination des allotypes portés par chacune des chaînes (G m et Inv).
- étude de la spécificité antigénique individuelle des globulines isolées par immunisation d'animaux avec les protéines purifiées et isolées.
- étude des groupements prosthétiques hydrocarbonés attachés aux chaînes polypeptidiques.

En fait aucune étude n'a évidemment comporté la totalité de ces examens. L'idéal pour un travail futur dans un cas de double paraprotéïnémie serait de les associer judicieusement. En effet, s'il est facile d'affirmer l'authenticité d'un double pic lorsqu'à la fois les chaînes lourdes et légères sont différentes par exemple : $\gamma G \kappa + \gamma A L$, au contraire seule une étude approfondie permettrait d'affirmer sa réalité lorsque les chaînes lourdes et légères sont du même type, comme c'est le cas dans certaines associations $\gamma G + \gamma G$ rapportées. On pourrait alors envisager l'existence de véritables hybrides comme cela a été signalé une fois par Prendergast et Kunkel (66).

PROBLEME de FOND

*Les deux immunoglobulines pathologiques correspondent-elles
à deux clones cellulaires différents ou sont-elles
synthétisées simultanément par les mêmes cellules ?*

La réponse à cette question fondamentale a évidemment des implications fort importantes en ce qui concerne les théories sur la synthèse des anticorps. En effet, si les tenants des théories sélectives sont actuellement de plus en plus nombreux, personne ne sait encore si une cellule immuno-compétente est conditionnée d'emblée génétiquement pour reconnaître et produire un seul type d'anticorps spécifique avant même d'avoir été en contact avec l'antigène correspondant ou si au contraire, une telle cellule est multipotentielle au départ et ne se spécialise étroitement qu'après avoir été en contact avec un des antigènes possibles.

Avant de discuter les résultats des diverses observations de la littérature concernant cette question pour le problème qui nous occupe, à savoir les doubles pics ; nous nous permettrons de faire un bref rappel sur l'état de la question d'une manière plus générale.

La réponse à la question fondamentale " ... une même cellule peut-elle synthétiser plus d'une variété d'immunoglobulines ou d'anticorps ? ..." n'est pas exactement la même selon qu'il s'agit d'immunoglobulines ou d'anticorps proprement dits.

I - Pour les immunoglobulines

De très nombreux travaux (8, 12, 53) ont été publiés portant sur une

grande variété de tissus lymphoïdes humains et animaux. Il y a accord général pour conclure qu'en règle un plasmocyte ne synthétise qu'une seule immunoglobuline ayant une classe et une sous-classe données de chaînes lourdes et un type donné de chaînes légères Kappa ou Lambda, jamais les deux à la fois. Ce fait fondamental a été principalement acquis grâce aux techniques d'immunofluorescence directe avec double marquage. Cependant tous les auteurs acceptent en fait qu'à l'état physiologique, un faible pourcentage de cellules (1 à 2 %) est capable de synthétiser deux immunoglobulines à la fois.

- a) - une exception apparente pour cette règle d'étroite spécialisation mérite d'être mentionnée. On sait que lors d'une immunisation primaire, les anticorps les plus précocément produits sont de nature Ig M et ceux de nature Ig G leur font suite peu de temps après. La question qui se pose est de savoir si ces anticorps prennent naissance dans la même cellule qui successivement fabriquerait des Ig M, puis des Ig G ou si, au contraire, il s'agit de deux types cellulaires différents. Nossal (57) a étudié attentivement ce problème dès 1964, ses résultats avaient été mis quelque peu en doute en raison des insuffisances méthodologiques de l'époque. Il a repris tout récemment cette question (58) et aboutit à une conclusion assez formelle d'un pourcentage relativement élevé de cellules qui, à un temps donné, contiennent à la fois des anticorps Ig M et des anticorps Ig G. Celle-ci va d'ailleurs tout à fait dans le sens des résultats tout récents de Fudenberg (26) qui a pu faire la séquence d'une partie des chaînes lourdes de 40 immunoglobulines pathologiques et a constaté que l'on trouvait très souvent des analogies étroites même dans les portions variables entre certaines γ G et certaines γ M.
- b) - Une autre exception à la règle consiste en la synthèse d'immunoglobulines par les lignées cellulaires humaines entretenues.

Il s'agit de lignées établies à partir de sujets atteints d'hémopathies malignes (lymphomes de Burkitt, leucémies aiguë et chronique), de mononucléoses infectieuses et de quelques sujets sains.

Or ces lignées entretenues synthétisent assez souvent dans le milieu de culture des immunoglobulines variées. Il n'est

pas rare que par immunofluorescence directe on trouve deux types de chaînes lourdes dans la même cellule (35) . Il faut cependant bien se rendre compte qu'il s'agit de conditions de vie très particulières qui ne permettent pas d'extrapoler ces résultats aux situations physiologiques.

II - Pour les anticorps

en ce qui concerne la synthèse simultanée éventuelle de deux anticorps par la même cellule, les immunologistes se sont trouvés souvent en contradiction. Alors que certaines expérimentations trouvaient des proportions élevées (jusqu'à 45 %) de cellules doubles-productrices (36), d'autres, au contraire, n'en trouvaient aucune. Beaucoup de ces travaux contradictoires ont été menés avec des systèmes antigéniques et des modes d'immunisation différents et les tests détectant les anticorps produits avaient des sensibilités non comparables. Les publications de Green et coll. (29), de Gershon (27), de Makela (52) concluent de façon formelle à l'absence de cellules produisant à la fois deux anticorps de spécificité différente.

Notons toutefois que par la technique d'immuno-cyto-adhérence beaucoup plus sensible que toutes les précédentes, certains auteurs, tout récemment, remettent à nouveau cette conclusion en question (49).

En tout cas signalons que personne n'a jamais été capable de trouver une cellule pouvant synthétiser trois anticorps à la fois.

Résultats concernant les cellules des malades avec doubles pics

En fait, relativement peu de malades ont été étudiés de ce point de vue et les résultats obtenus sont relativement différents.

1) - sur le simple plan cytologique, la plupart des auteurs n'ont pas relevé de différences morphologiques évidentes avec les colorations usuelles. Toutefois Imhof (39) note que dans deux de ses

cas (une Ig M + une Ig A et une Ig G + Ig M), deux populations cellulaires étaient nettement visibles, l'une à dominante plasmocytaire, l'autre lymphocytaire ; c'est également le cas de l'observation de Hurez (38) où il trouvait l'association d'une Ig M et d'une Ig A, les lymphocytes produisant la première immunoglobuline, les plasmocytes la seconde.

- 2) - la méthode la plus utilisée pour essayer de répondre à la question fondamentale a été l'immunofluorescence avec double marquage, l'un des antisérums étant marqué en vert par l'isothiocyanate de fluorescéine, l'autre antisérum étant marqué en rouge par la rhodamine.

→ Un certain nombre d'auteurs, les plus nombreux, n'ont trouvé aucune cellule de coloration mixte, mais au contraire deux populations cellulaires nettement différenciées, l'une produisant une immunoglobuline et l'autre produisant la seconde : c'est le cas de Curtain (14), Dittmar et Koshwa (18), Hurez (38), Rosen (70) et Bjerrum (9).

→ Quelques autres au contraire, ont trouvé un grand nombre, sinon toutes les cellules, teintées par les deux fluorochromes à la fois ; c'est le cas de Costea (13), Sanders (71) et Van Furth (79).

Cette dernière référence ne repose en réalité que sur quelques mots lors d'une discussion dans un Congrès, l'auteur n'ayant apparemment pas publié complètement ses résultats depuis. Par contre l'étude de Sanders est extrêmement complète et au-dessus de toute critique.

Le problème était en réalité plus complexe puisque les études en immunofluorescence ont été faites pour un malade qui possédait trois immunoglobulines pathologiques dans son sérum (Ig G, Ig A, Ig M plus une Bence-Jones urinaire de type Kappa). Comme il ne disposait que de deux fluorochromes de couleur contrastée, il est évidemment impossible de savoir si la même cellule renfermait les trois immunoglobulines pathologiques. D'après leurs résultats, le fait est possible mais non prouvé ; par contre il est certain que la majorité des

cellules examinées renfermaient au moins deux des chaînes lourdes différentes.

De toutes façons, les résultats de ces études en immunofluorescence doivent être interprétés avec beaucoup de circonspection, car il s'agit d'une technique finalement assez peu discriminative. Si la cellule contient seulement un faible pourcentage de la seconde immunoglobuline (5 à 10 %), celle-ci ne sera pas révélée par le second fluorochrome. D'autre part, il faut se méfier des réactions croisées possibles entre diverses immunoglobulines possédant des déterminants communs sur leur fragment Fd. Ces réactions trompeuses ont été rapportées par Preud'homme et Coll. (62).

On peut penser que la technique de fluorescence séquentielle avec étape intermédiaire de blocage de la fluorescence par irradiation ultra-violette prolongée (64) qui a été utilisée par Vaerman (78), à propos de ses études sur les plasmocytes de la muqueuse digestive, serait tout à fait appropriée pour ce genre d'étude. En effet, elle permettrait beaucoup plus facilement de répondre à la question pour les pics triples .

On pourrait envisager également de recourir à la combinaison : immunofluorescence - anticorps marqués aux enzymes, telle qu'elle a été récemment proposée par Burtin et Avraméas (30).

Enfin, il serait de toutes façons intéressant d'étudier également par immunofluorescence sur cellules vivantes la présence éventuelle de ces immunoglobulines sur la membrane des cellules sécrétrices (67). A notre connaissance, ce type d'étude n'a pas été fait pour aucun des doubles pics de la littérature.

Enfin, il faut bien reconnaître que toutes les méthodes précédentes indiquent en réalité l'accumulation, mais non nécessairement la synthèse des immunoglobulines dans les cellules et que, pour être complète, une telle investigation devrait comprendre des études bio-synthétiques approfondies :

non pas tant par immuno-auto-radiographie comme l'ont fait Sanders et Fahey (71), technique qui ne peut apporter qu'une réponse globale et non à l'échelon cellulaire, mais par des études sur des cellules isolées du même type que celles qui

ont été réalisées par Nossal et Ada (57).

Enfin, on pourrait imaginer d'examiner la synthèse de ces deux immunoglobulines à l'échelon ultra-structural, en utilisant par exemple la technique d'Avrameas (30) aux anticorps couplés à des enzymes, mais actuellement celle-ci ne permet pas d'opérer un double marquage.

En CONCLUSION : On ne peut répondre de manière univoque à la question posée en tête de ce chapitre. Certes, la plupart des auteurs n'ont pas trouvé de cellules produisant en même temps les deux immunoglobulines, ils se trouvent donc en accord avec le " dogme " de la haute spécialisation quelques autres au contraire en ont trouvé un fort pourcentage, cette dernière constatation pourrait être facilement acceptée si l'on admet que 1 % des cellules immunocompétentes synthétisent deux immunoglobulines à la fois. Elle est beaucoup plus difficilement recevable si l'on assimile les protéines myélomateuses à des anticorps de spécificité étroite. Or l'on sait que c'est la tendance actuelle, particulièrement bien développée dans une récente revue générale de Potter (65).

Le CARYOTYPE dans les LEUCOSES à PLASMOCYTES
et dans les DYSPROTEINEMIES
présentant un DOUBLE PIC

Les descriptions chromosomiques dans les leucoses à plasmocytes dans la littérature sont extrêmement rares : nous avons retrouvé 2 cas seulement dans la littérature :

- . le 1er décrit par Cardini en 1964 : il avait observé un clone à 52 chromosomes par acquisition de 4 C, 1 D et 1 F ;
- . le 2ème publié par Cardini et Collaborateurs (12) en 1970 caractérisé par un clone majoritaire constitué de cellules hypodiploïdes à 45 chromosomes : il y aurait eu perte de deux C et d'un D avec acquisition d'un marqueur acrocentrique et apparition d'une trisomie F.

Cette deuxième observation est intéressante car elle présente certains points communs avec la nôtre :

- . homme âgé de plus de 60 ans ayant au début éprouvé une asthénie
- . une anémie importante, une hyperleucocytose et un taux de plasmocytes élevé
- . une protéinurie majeure
- . une hypoprotéïnémie
- . l'immunoélectrophorèse révèle la présence de chaînes légères du type Kappa

du point de vue génétique :

- . prédominance de cellules hypodiploïdes
- . dans la plupart des cellules, prédomine la perte d'un ou plusieurs chromosomes C.

D'autre part, nous avons relevé dans la littérature, un cas de myélome avec double pic présentant des anomalies chromosomiques (15). Ces anomalies étaient les suivantes : sur 21 cellules de moelle étudiées, seulement deux étaient anormales : l'une ayant perdu 2 chromosomes de la série G, l'autre pseudo-diploïde avec un caryotype très perturbé : 1 chromosome supplémentaire dans la série A B, 2 chromosomes de la série D et E manquant et 3 chromosomes supplémentaires ressemblant à la série G étaient observés.

EN CONCLUSION : Nous ne pouvons que rapporter ces observations
----- sans en tirer de conclusions car la rareté des examens caryotypiques dans les leucoses à plasmocytes et dans les dysprotéïnémies à double pic, ne nous permet pas d'affirmer l'existence d'un variant commun dans de telles maladies.

L' ETUDE des PROTIDES
dans les LEUCOSES à PLASMOCYTES

Les cas de leucémies à plasmocytes sont rares ; aussi la plupart d'entre eux (une centaine environ) ont été publiés et ont fait l'objet de nombreux travaux.

Deux excellentes revues générales, l'une française de Warter et Coll. en 1967 et l'autre canadienne de Prudzanski (1969) résument les données de la littérature et permettent de mieux situer l'affection dans le cadre des dysglobulinémies.

Si, maintenant le problème nosologique de la maladie est résolu puisque la majorité des auteurs s'accordent à reconnaître que la Maladie de Kahler et leucose à plasmocytes sont deux modes d'expression différents d'une même maladie, l'étude des protides dans la leucose à plasmocytes par contre est, dans l'ensemble, très incomplète puisque 16 cas seulement dans toute la littérature ont bénéficié d'une étude immunoélectrophorétique.

Le tableau ci-dessous montre la répartition des différentes immunoglobulines pathologiques précisées par immunoélectrophorèse pour les 16 cas étudiés, plus notre cas personnel.

Ig E	Ig D	β J κ L	Ig A	Ig G	Ig M	Normale	Paraprotéine non précisée
2 { λ }	1 { λ }	$\frac{14}{5}$	1	2	3	2	1

Cette étude des immunoglobulines est intéressante malgré le caractère parcellaire qu'elle présente.

En effet, il est très remarquable que les deux seuls cas rapportés à notre connaissance dans toute la littérature d'Ig E "myélomes" concernent tous deux des malades atteints de leucose à plasmocytes. Rappelons que le premier cas décrit en 1967 par Johansson et Coll. (42) tout d'abord dénommé Immunoglobuline N D, a été rapidement identifié à l'Ig E décrite par Ishizaka (10) ; quant au second décrit par Ogawa et Coll. en 1968 (60), il avait comme le premier une forte protéinurie de Bence-Jones de type Lambda. Il n'est évidemment pas possible sur ces deux seuls cas de pouvoir prétendre que tous les myélomes Ig E à découvrir se présenteront sous une forme leucémique, mais cette curieuse constatation mérite d'être soulignée.

De même le nombre d'études immunochimiques concernant le type de chaînes légères est notoirement insuffisant pour qu'on se permette de faire de la statistique ; à première vue toutefois il pourrait sembler que le type lambda est anormalement représenté : 7 de type Lambda - dont notre cas -, pour une de type Kappa parmi celles qui ont été typées.

Un cas de leucoses à plasmocytes avec Ig D globuline a été signalé dans la littérature par Ben Bassat en 1968 (7) ; ce cas a été retrouvé parmi 30 cas d'Ig D myélomes.

L'électrophorèse, par contre, a été effectuée beaucoup plus fréquemment et nous pouvons en déduire les généralités suivantes :

- dans 90 à 99 % des cas comme dans la maladie de Kahler, les sujets ont une anomalie protéïque dans les urines, dans le sérum ou dans les deux.
- Le taux de protides est habituellement élevé et sur 59 cas de la littérature, le dosage pondéral donne des chiffres supérieurs à 80 g. dans 34 cas, entre 70 et 80 g. dans 15 cas, inférieurs à 70 G dans 10 cas. Notre cas personnel montrait un dosage de 47 g/l.

L'étude quantitative par électrophorèse indique que dans 78 % des cas, la paraprotéine migre comme une gammaglobuline.

Dans 14 % des cas, c'est un pic α_1 ou α_2 et dans 7 % c'est un pic β .

6 fois sur 100, l'électrophorèse est normale, encore doit-on tenir compte du fait que des variations ont été signalées dans le cours évolutif de la maladie (MARCHAL L.{54}) .

EN CONCLUSION : Nous pouvons dire que les anomalies protéiques rencontrées dans les leucoses à plasmocytes sont superposables à celles rencontrées dans la Maladie de Kahler avec toutefois l'exclusivité pour l'Ig E et la prédominance des types λ .

A notre connaissance, aucun autre cas de double pic n'a été rapporté au cours d'une leucose à plasmocytes.

CONCLUSIONS

On sait qu'en règle générale on n'observe qu'un seul pic d'immunoglobulines dites monoclonales dans les myélomes et autres dysglobulinémies apparentées.

Le cas rapporté ici concerne une leucose à plasmocytes où existait un double pic sérique d'immunoglobulines pathologiques constitué d'une molécule entière de type Ig G L et de chaînes légères sériques du même type λ retrouvées également dans les urines. Toutefois les études immunologiques nous ont permis de conclure à l'existence de deux populations cellulaires distinctes, chacune synthétisant l'une des portions pathologiques.

A la suite de cette observation privilégiée, il nous a paru intéressant d'étudier le plus complètement possible les données de la littérature sur ce sujet.

- Les doubles pics authentiques sont rares ; notre étude nous a permis d'en relever 102 cas dans la littérature.
- La fréquence générale se situe aux environs de 1 % des paraprotéinémies.
- Pour définir les véritables doubles pics , nous avons éliminé successivement :
 - la Bence-Jones sérique accompagnant une immunoglobuline pathologique entière.
 - la γ A polymérique
 - l'association γ A avec d'autres protéines

- certaines γ G qui présentent des phénomènes d'hétérogénéité.
 - la dégradation des immunoglobulines.
-
- L'association la plus communément rencontrée est l'association γ G + γ A (36 fois sur 102) vient ensuite l'association γ G + γ M (19 fois), l'association γ G + γ D n'a été rapportée qu'une seule fois, quant à l'association de la γ E avec une autre globuline, elle n'a jamais encore été signalée. L'existence de pics triples a été exceptionnellement rapportée.
 - Il semblerait que tout patient présentant une paraprotéïnémie double soit atteint d'une maladie maligne (le myélome dominant largement toutes les étiologies (60 fois sur 102)).
 - D'une façon générale, les doubles pics apparaîtraient d'emblée ; d'autre part, sous traitement on assisterait à une stabilisation, voire à une disparition d'un des pics.
 - Ensuite, nous avons envisagé les méthodes immunochimiques pour une étude approfondie des doubles pics.
 - Enfin, nous avons abordé le problème de fond : les deux immunoglobulines pathologiques correspondent-elles à deux clones cellulaires différents ou sont-elles synthétisées simultanément par les mêmes cellules ? .. La méthode la plus utilisée pour essayer de répondre à cette question fondamentale a été l'immunofluorescence avec double marquage. La plupart des auteurs n'ont trouvé aucune coloration mixte, mais au contraire deux populations cellulaires nettement distinctes : quelques autres ont trouvé un grand nombre de cellules teintées par les deux fluorochromes à la fois. On ne peut donc répondre de manière univoque à la question posée ; cependant la tendance

actuelle est d'assimiler les protéines myélomateuses à des anticorps de spécificité étroite, donc produits d'un seul clône.

Après cette étude approfondie des doubles pics, nous avons décrit assez rapidement le caryotype et les protides dans les leucoses à plasmocytes. Le nombre restreint des caryotypes publiés et des immunoélectrophorèses pratiquées ne nous permet pas de conclure à l'existence d'un variant commun dans de telles maladies. Il est intéressant de signaler cependant pour les anomalies protéiques (qui sont d'une façon générale superposables à celles de la Maladie de Kahler), la prédominance des immunoglobulines pathologiques de type λ , et surtout le fait que les deux seuls myélomes Ig E connus aient été décrits au cours de leucoses à plasmocytes.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - Alami S.Y. , Reese M.H., Bowman Ro., Race G.J.
Lympho sarcoma with two serum Ig G M components of différent L
chain types.
... Amer. J. clin. Path. 51, 185, 1969
- 2 - Arquembourg P.C., Salveggio J.E. , Bickers J. N.
Primer of immunoelectrophoresis
... 1 vol. p. 56, S. Karger ed Bâle 1970
- 3 - Auquier L., Rousselet F., Paolaggi J.D., Rouques Cl.
Un cas de myélome multiple comportant à l'électrophorèse un
double pic de paraprotéine Ig G de structure antigénique identi-
que (type $\gamma_2 \kappa_2$).
... Sem. Hôp. Paris 47, 27, 1751, 1971
- 4 - Axelsson V., Bachmann R. et Hallen J.
Frequency of pathological proteins (M. Components) in 6995 sera
from an adult population.
... Acta med. scand. 179, 235, 1966
- 5 - Bachmann R.
Simultaneous occurence of two immunologically différent M - com-
ponents in serum.
... Acta med. Scand. 177, 595, 1965
- 6 - Bachmann R.
Studies on serum immunoglobulines with special reference to
pathological proteins M. components.
... Acta Univ. Lund II p. 13 n° 10 1966
- 7 - Ben Bassat I. , Frand V I, Isersky C.H. and Ramot B.
Plasma cell leukemia with Ig D paraprotein.
... Arch. intern Med (Chicago) 121 - 361 - 1968

- 8 - Bernier G.M. et Cebra J.J.
Polypeptide chains of human gamma-globulin : cellular localization by fluorescent antibody.
... Science 144 - 1590, 1964
- 9 - Bjerrum O.J. et Weeke B.
Two M components γ G κ and γ ML in different cell of the same patient
... Scand. J. of haemat. 5 : 215, 1968
- 10 - Brackenridge C.J.
Some observations on myéloma and macroglobulinaemia in Australia.
... Med. J. Aust. 2 : 493, 1968
- 11 - Burtin P. et Buffe D.
Etudes en immunofluorescence des plasmocytes humains de γ et β_2 myélomes.
... Path. et Biol. 12. 5 - 1964
- 12 - Cardini G., Beni M. , Gasparini C.
Anomalies chromosomiques dans une leucémie à plasmocytes.
... Nouv. Rev. franç. d'Hemat. 10 - 6 - 787 - 1970
- 13 - Costea N., Yakulis V. , Libnoch J. , Pilz C. et Heller P.
Two myeloma globulins (Ig G and Ig A) in one subject and one cell line.
... Amer. J. med. 42, 630 , 1967
- 14 - Curtain C C.
Immuno-cytochemical localization of two abnormal serum globulins in the one bonemarrow smear.
... Aust. Ann. Med. 13 - 136 - 1964
- 15 - Dammacco.F, Trizio D. and Bonomo L.
A case of Ig AK myelomatosis with two urinary Bence-Jones protein (Bj k and Bj L) and multiple chromosomal abnormalities
... Acta haemat. 41 : 309 , 1969
- 16 - Danon F., Clauvel J.P. et Seligmann M.
Les paraprotéines de type Ig G et Ig A en dehors de la Maladie de Kahler.
... Rev. franç. Etudes Clin. et Biol. XII - 681 - 1967
- 17 - Debray - Sachs M.
Les protéines sériques dans la Maladie de Kahler. Les dysprotéinémies.
... 1 vol. 143 - l'Expansion édit. 1963

- 18 - Dittmar K., Kochwa S., Zucker Franklin D. and Wasserman L.R.
Coexistence of polycythemia vera and biclonal gammopathy
(γ Gk and γ AL) with two Bence-Jones proteins (Bj K and Bj L)
... Blood 31 . 81 - 1968

- 19 - Drivsholm A. and Clausen J.
The relation ship between the cytology and the immunoelectrophoretic pattern in 105 cases of myelomatosis.
... Acta med. scandinav. 175 - 609 - 1964

- 20 - Durand J.P., Piguet H. , Houdent G., Deshayes P.
Les leucoses à plasmocytes, commentaires à propos de 2 observations.
... Ouest méd. 24, 1, 23 - 1971

- 21 - Engle R.L. et Nachman R.L.
Two Bence-Jones proteins of different immunologic types in the same patient with multiple myeloma.
... Blood 27, 74, 1966

- 22 - Fahey J.L., Carbone P.P., Rowe D.S. and Bachmann R.
Plasma Cell myeloma with D - myeloma protein (Ig D myeloma)
... Amer. J. of Med. 45 - 377 - 1968

- 23 - Fahey J.L. and Hymes F.
... Unpublished data. National cancer institute, Immunoglobulin reference center.

- 24 - Fateh-Moghadam A., Würz H. Geser R.M.
Doppel paraproteinämie
... Deutsch Med Wschr. : 93 - 1695, 1968

- 25 - Fine J.M. et Creyssel R.
Contribution à l'étude immunochimique des "globulines anormales" du sérum au cours du myelome.
... Rev. franç. étud. Clin. Biol. 6 : 766, 1961

- 26 - Fudenberg H.H., Wang M.D.A.C., Pink J.R.L.n David P.H., Levin A.S.
Studies on a biclonal gammopathy
... Brit. med. J., 5757 - 320 - 1971

- 27 - Gershon H., Bauminger S., Sela M. et Feldman M.
Studies on the competence of single cells to produce antibodies of two specificities.
... J. exp. Med. 128 - 223 - 1968

- 28 - Gilbert K.E., Merker H.J. et Tanschwitz K.
Electronmicroscopical findings in a patient with 3 paraproteins
In H. Peeters (ed.) Proteides of the biological fluids.
Vol. XV Elsevier, Amsterdam 1968
- 29 - Green I.P., Vassalli P., Nussenzweig V. et Bena Cerraf B.
Specificity of the antibodies produced by single cells following
immunization with antigens bearing two types of antigenic deter-
minants.
J. exp. Med. 125, 511, 1967
- 30 - Guillian P., Avrameas S. and Burtin P.
Specificity of antibodies in single cells after immunization
with antigens bearing several antigenic determinants.
Study with a new paired Staining technique immunology 18,
483, 1970
- 31 - Hallen J.
Discrete gammaglobulin (M) components in serum
... Acta med. scand. suppl. 462, 31, 1966
- 32 - Harboe M., Osterland C.K., Mannik, Met Kunkel H.G.
Genetic characters of human γ globulins in myeloma proteins
... J. exp. Med. 116, 719, 1962
- 33 - Heremans J.F.
Les globulines sériques du système gamma, leur nature et leur
pathologie.
... Paris, Thèse 1960, Masson ed.
- 34 - Heremans J.F. et Heremans M. Th.
Immunoélectrophoresis.
... Acta med. scand. suppl. 367, 27, 1971
- 35 - Hijmans W., Schuit H.R.E. and Klein F.
An immunofluorescence procedure for the detection.
Of Intracellular immunoglobulins.
... Clin. exp. immunol. 4, 457, 1969
- 36 - Hiramoto R.N. and Hamlin M.
Détection of two antibodies in single plasma cells by the
paired fluorescence technique.
... J. of immunology 95, 214, 1965
- 37 - Hobbs J.R.
Paraproteins benign or malignant ?
... Brit. Med. J., 3, 699, 1967

- 38 - Hurez D., Preud'homme J.L. et Seligmann M.
Synthèse des immunoglobulines : données récentes et intérêt
en hématologie.
... Actualités hématologiques - 3ème série p. 217, Masson ed. 1969
- 39 - Imhof J.W., Baillieux R.E., Mul N.A.J. and Poen H.
Monoclonal and diclonal gammopathies
... Acta med. Scand. 179, suppl. 445, 102, 1966
- 40 - Ishizaka K., Ishizaka T.
Identification of gamma E antibodies as a carrier of reaginic
activity.
... J. immun. 99, 1187-1198, 1967
- 41 - Jensen K., Jensen K.B. et Olesen H.
Three M. components in serum from an apparently healthy person.
... Scand. J. Haemat. 4, 485, 1967
- 42 - Johansson S.G.O., Bennich H.
Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobulin.
... Immunology 13, 381, 1967
- 43 - Kistner S. et Nordberg R.
" The simultaneous occurrence of two different myeloma proteins"
... Scand. J. Clin. Lab. Invest. 17, 321, 1965
- 44 - Kjeldsen K. et Asfeldt V.H.
Macroglobulinemia or multiple myeloma ?
... Acta Med. Scand. 174, 407, 1963
- 45 - Korhgold L. in M. Stefanini (ed.)
... Progress in clinical pathology p. 362. Grune et Stratton
New-York 1966
- 46 - Kunkel H.J. et Prendergast
Subgroups of gamma A immunoglobulins
... Proc. soc. exp. biol. Med. 122, 910, 1966
- 47 - Larget-Piet A.
Contribution à l'étude cytogénétique des hémopathies humaines
... Angers, Thèse 1971
- 48 - Laurell C.B.
Paper electrophoretic pattern after protein staining.
... Acta Med. Scand. 170 suppl. 367, 9, 1961

- 49 - Liacopoulos P., Couderc J., Gille F. et Amsrutz H.
Deux spécificités anticorps différentes produites par des cellules
sphériques individuelles
Communication à la Soc. franç. d'Immunologie, 22, 4, 1971
- 50 - Leduc E.H., Avrameas S. Bouteille M.
Ultra-structural localization of antibody in differentiating
plasma cells.
J. Exp. Med. 127, 109, 1968
- 51 - Lièvre J.A., Camus J.P., Darcey M., Crouzet J; et Guillien P.
Myélome avec tumeur iliaque (résection, reconstruction au ciment
plastique, effet sur les paraprotéines).
... Ann. Med. Int. 122 - 5, 663, 1971
- 52 - Makela O.
The specificities of antibody production by single cells.
... in : Cold spring Harbor Symposia on quantitative biology
antibodies. 32, 423, 1967
- 53 - Maldonado J.E., Williams R.C., Silverstein M.N., Harrison E.G.
Lymphosarcoma with Bence-Jones proteinuria (type K) and Ig G
serum M. component (type L) : a atypic gammopathy.
... Mayo Clinic Proc. 45, 413, 1970
- 54 - Marchal L.
Sur 3 cas de leucoses à plasmocytes
... Sem. Hôp. Paris 4, 3211, 1951
- 55 - Mellors R.C. et Korngold L.
The cellular origin of human immunoglobulins.
... J. exp. Med. 118, 387, 1963
- 56 - Miller D.G. and Korngold L.
Monoclonal immunoglobulins in cancer
... M. Clinic. North. America, 50, 667, 1966
- 57 - Nossal G.J.V., Szenberg A., Ada G.L. et Austin C.M.
Single cell. studies on 19 S antibody production.
... J. exp. Med. 119, 485, 1964
- 58 - Nossal G.J.V., Warner N.L. and Lewis H.
Incidence of cells simultaneously secreting Ig M and Ig G antibody
to sheep erythrocytes cellular.
... Immunology 2, 41, 1971

- 59 - Odeberg H. Berlin S.O. et Weingart L.
Famijär förekomst av. M. Komponent och myelome
... Nord. Med. 78, 953, 1967
- 60 - Ogawa M., Kochwa J., Smith C., Ishizaka K. and MacIntyre O.R.
Clinical aspects of Ig E myeloma.
... New England J. of Med. 281, 1217, 1969
- 61 - Onodera S., Shibata A., Miura A.B., Suzuki A., Sakamoto S.,
Suzuki C. and Kobayashi I
Two Ig A paraprotein peaks in a case of multiple myeloma
... Acta Haem. Jap. 31, 175, 1968
- 62 - Osserman E.F.
Plasma cell myeloma II clinical aspects
... New England J. Med. 261, 952, 1959
- 63 - Oxelius V.A.
Alternating appearance of Ig D and Ig G myeloma protein during
treatment
... Scand. J. Haemat. 8, 439, 1971
- 64 - Pernis B.
Relation ship between the heterogeneity of immunoglobulins and
the different plasma cells.
... Cold spring Harbor symposia on quantitative biology antibodies
32, 333, 1968
- 65 - Potter M.
Myeloma Proteins (M. Components) with antibody like activity.
... The new England J. of Med. 284, 831, 1971
- 66 - Prendergast R.A., Grey M.M., Kunkel H.G.
Recombination of heavy and light chains of human γ A - myeloma
proteins : formation of hybrid molecules and configurational
specifity.
... J. exp. Med. 124, 185, 1966
- 67 - Preud'homme J.P., Klein M., Verroust P. et Seligmann M.
Immunoglobulines monoclonales de membrane dans les leucémies
lymphoïdes chroniques.
... Rev. Europ. et clin. et biol. Décembre 1971
- 68 - Pruzanski W., Platts M.E., Ogryzlo M.A.
Plasma cell. leukemia.
... Am. J. Med. 47, 60, 1969

- 69 - Radl J., Chertok N. and Rihova D.
Ein Fall von Myelom und Bildung Zweier an antigener Hinsicht
unterschiedlicher Paraproteine.
... Klin. wscr. 44, 117, 1966
- 70 - Rosen B.J., Smith T.W. and Bloch K.J.
Multiple myeloma associated with two serum M - components.
... New England J. Med. 277, 902, 1967
- 71 - Sanders J.H. and Fahey J.L.
Significance of coexisting pairs of anomalous immunoglobulins
... Clin. Research 15, 299, 1967
- 72 - Sanders J.H., Fahey J.L., Finegold I., Ein D., Reisfeld R. and
Berard C.
Multiple anomalous immunoglobulins : clinical, structural and
cellular studies in three patients.
... Am. J. Med. 47, 43, 1969
- 73 - Scheurien P.G.
Plasmozytom mit mehrfacher proteinanomalie.
... Dtsch. med. Wscr. 89, 42, 1964
- 74 - Seligmann M., Fourcade A., Danon F. et Basch A.
Types K et L des chaînes légères des macroglobulines (Ig M)
pathologiques humaines.
... Rev. franç. étud. clin. biol. 12, 998, 1967
- 75 - Solomon A. and Fahey J.L.
Bence-Jones proteinemia.
... Amer. J. of Med. 37, 206, 1964
- 76 - Szeinberg A., Weissman M.D. and Tauman G.
A case of multiple myeloma with two abnormal serum globulin
fractions detected by means of paper electrophoresis.
... Am. J. Clin. Path. 32, 257, 1959
- 77 - Vaerman J.P., Johnson L.B., Mandy W. and Fudenberg H.H.
Multiple myeloma with two paraproteins peaks : an instructive case
... J. Lab. Clin. Med. 65, 18, 1965
- 78 - Vaerman J.P.
Studies on Ig A immunoglobulins in Man animals.
... Thèse Louvain 1970

- 79 - Van Furth R., Schult H.R.E. and Hijmans W.
In vitro synthesis and immunofluorescent studies of monoclonal
Ig G in non myeloma bone-marrow
... Nobel symposium 3 gamma-globulins p. 443, 1967
- 80 - Warter J., Mantz J.M., Grappe J.M., Berthier G., Melon G
La Leucémie à plasmocytes. A propos de 3 observations.
... Sem. Hôp. Paris 43, 503, 1967
- 81 - Weiter O. et Hertenstein C.H.
Die optische Rotations dispersion isolierter paraproteine IV -
untersuchungen bei multiplem myelom mit doppelter proteinanomalie
... Klin. wscrh. 44, 1111, 1966
- 82 - Zawadzki Z.A. and Edwards G.A.
M - components in immunoproliferative disorders electrophoretic
and immunologic analysis of 200 cases.
... Am. J. Clin. Path. 48, 418, 1967

